

ラット皮質脊髄路線維の脊髄灰白質投射の可塑性 ： 正常および一側大脳皮質切除後の発達変化

著者	青谷 裕文
発行年	1999-09-29
URL	http://hdl.handle.net/10422/2616

氏名・(本籍) 青谷裕文(京都府)
 学位の種類 博士(医学)
 学位記番号 博士(論)第257号
 学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当
 学位授与年月日 平成11年9月29日
 学位論文題目 ラット皮質脊髄路線維の脊髄灰白質投射の可塑性

— 正常および一側大脳皮質切除後の発達変化 —

審査委員 主査 教授 松田昌之
 副査 教授 木村宏
 副査 教授 島田司巳

論文内容の要旨

【目的】

成獣と仔獣に同程度の脳損傷を加えた場合幼若なものほど大きな機能的回復を示すことが明らかにされ、現在この現象は infant lesion effect (乳児期損傷修復効果) と呼ばれている。運動機能面での乳児期損傷修復効果の発達神経生物学的機序としては、皮質脊髄路線維の過剰伸展・分枝とその後の消退または淘汰、皮質障害後の皮質脊髄路線維の走行変更や側枝崩出現象などの関与が明らかにされつつある。本研究では、異なった発達段階において一側大脳皮質が障害された場合、皮質脊髄路線維の脊髄灰白質投射にいかなる変化が生ずるかを、順行性 HRP (horseradish peroxidase) 法により組織化学的に検索した。

【方法】

本実験では SD 系新生仔ラットを用いた。

〈正常群〉: 正常ラットにおける皮質脊髄路 (CST) 線維の脊髄灰白質投射を観察するため、生後 1、7、10、14、21、28 および 56 日目のラットそれぞれ 3～4 匹に対してエーテルあるいはペントバルビタール麻酔下に左側大脳皮質知覚運動領野に 30% HRP 水溶液 0.2 μ l を注入した。48 時間後にこれらを 2% グルタルアルデヒド—0.5% パラホルムアルデヒド 0.1 M 磷酸緩衝液 (pH 7.4、4℃) にて灌流し、脳および胸髄以上の脊髄を摘出、さらに同液ついで 15% 蔗糖—0.1% 磷酸緩衝液にて固定した。

〈生後 1 日目右側大脳皮質切除群〉: 生後 1 日目の仔ラット 26 匹を低温麻酔下に電気ナイフまたは冷凍凝固により知覚・運動野を含む右側大脳皮質を広範に破壊/切除した。これらラットに処置直後、および生後 7、10、14、28、56 日目に、それぞれ 3～5 匹に対し麻酔下に左側大脳皮質知覚運動領野に 30% HRP 水溶液を注入した。48 時間後にこれらを灌流し脳および胸髄以上の脊髄を摘出・固定した。

〈経日の右側大脳皮質切除群〉: 生後 7、14、28 および 56 日目のラット各 3～4 匹に対し、正常群と同様に、麻酔下に右側大脳皮質を広範に破壊/切除した。これらのラットを正常環境で哺育し、処置後 2 ヶ月目に、各ラットの左側大脳皮質知覚運動野に正常群同様の量および方法で HRP を注入した。48 時間後にこれらを灌流後、脳および胸髄以上の脊髄を摘出・固定した。

固定された各群の脳脊髄から第 4—8 頸髄部分を切り出し、連続凍結切片を作成し、Ono らの方法に準じ HRP を発色させ顕微鏡観察に供した。

【結果】

正常ラットでは、右側頸髄皮質脊髄路 (後索の腹側約 1/3) からの HRP 陽性線維の灰白質投射は同側にのみ見られ、その密度と範囲は生後 10～14 日目に最高に達し、以後日齢とともに減少した。

生後 1 日目に右側大脳皮質を切除したラットでは、生後 3 日目から右側 CST の肥大が認められ、正常ではほとんど見られない HRP 陽性線維の対側 (左側) 灰白質への投射がかなり密にみられた。しかし灰白質への投射線維の密度と範囲の日齢にともなう変化は正常群と同様であった。

一方、生後経日的に右側大脳皮質を切除した場合、生後7日目および14日目に切除されたものでは、対側灰白質への投射は濃密に見られたが、生後28日目に切除されたものでは約3分の1に減じ、さらに56日目の切除では認められなかった。

【考 察】

頸髄の CST を構成する線維（軸索）の総数は生後急峻な増加を示し、ラットでは生後4日目に最高に達する。しかし、その後急激に減少し、成獣に達するまでに約60%が消退する。一方、ラット頸髄の CST から灰白質への軸索投射については、Curfs らの実験では投射線維密度、範囲とも生後10日目に、われわれの実験では生後10～14日目にかけて最高に達している。頸髄の CST の軸索総数が最高に達する時期と灰白質への軸索投射が最大となる時期には6～10日の差がある。Joosten らは正常新生仔ラットでの HRP による検索で、CST の親軸索からの多数の小軸索がほぼ水平に分枝・伸展していることを明らかにしている。彼らの結果と併せ考えると、この頂値の日差は、CST から灰白質に投射する軸索の殆どが CST を構成する親軸索からの分枝であるためと考えられる。

健側（右側）脊髄 CST から正中を越えて障害側脊髄灰白質に軸索分枝が投射する機序については、軸索の崩出や伸展を促す神経栄養因子が障害側でより豊富に産生されることなどが推測されるが、今後解明されるべき重要な課題である。

ところで、ラットの中枢神経系の組織発生とヒトのそれを対比すると、前者の生後1日目がおよそヒトの妊娠30週頃、また前者の生後7、10、14および20日目がそれぞれヒトの出生時、3か月、6か月、および12か月頃に相当する。この比較から類推すると、われわれの実験結果は、ヒトの場合においても、生後6か月頃までに蒙った脳の部分的障害では、残存神経細胞の可塑性により組織学的に、また機能的にかなり改善する可能性を示唆するものである。

【結 論】

ラットの一側大脳皮質障害後に、正常では見られない頸髄皮質脊髄路線維の対側へ灰白質投射がみられた。また、この灰白質投射の可塑的変化の臨界期は生後4週頃までであった。

論文審査の結果の要旨

本研究は、幼若な中枢神経の損傷後に見られるシナプス可塑性を解析する目的で、一側の大脳皮質を広範切除したラットモデルを用い、大脳皮質脊髄路の頸髄灰白質への投射様式を指標として免疫組織化学的に検索したものである。

生後1日目に一側の大脳皮質を損傷した場合、健常側の知覚運動野皮質から頸髄灰白質への投射は、正常例とは異なり正中を越えて対側にも豊富に分布することが確認された。この対側の頸髄灰白質への投射は、生後14日目までの損傷例では有意に多く検出されるが、成熟とともに損傷に応答する可塑性神経の分枝は激減することを明らかにした。

以上の結果は、周産・新生児期における脳障害後の神経可塑性の研究に新しい知見を与えたものであり、臨床における早期発見と治療法確立の重要性を明確にしたものと考えられる。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成11年8月26日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。